

2024 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除してください。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：竹内 恒

所属機関名・部局名・職名：東京大学大学院・薬学系研究科・教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入してください。)

細胞内超分子構造体の構成タンパク質の固体 NMR 解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：松木 陽 (研究室名： 機能構造計測学 研究室)

(5) 研究成果の概要

近年、細胞内において膜構造で隔てられていないにもかかわらず、特定の分子群が高濃度に集積することで特定の機能場を形成する液-液相分離 (LLPS) が注目されている。一方、中心体をはじめとして、細胞内には、固体または固体に近い物性を示す非膜オルガネラも古くから知られており、超解像顕微鏡等の発達に伴い、新たな固体状の超分子複合体の発見、さらにその微細構造の研究が進捗しつつある。これらの固体様の超分子複合体は、その物性に依拠して固有の生理機能を果たす。しかしながら、LLPS の形成原理は目下、国際的に非常に盛んな研究が行われているのに対して、固体超分子構造体の形成原理についての研究は立ち遅れている。我々は、世界に先駆けてこの課題を解決することを目指し、細胞生物学・生化学、ケミカルバイオロジー、構造生物学、およびソフトマター物理学を専門とする研究者で研究チームを構成し、研究に取り組んでいる。この中で、構造生物学は、顕微鏡観察される数百 nm 以上のスケールの構造体が、一定の秩序を持って形成されることを可能とする、原子レベルの相互作用情報と、形成過程の進行に伴う相互作用のダイナミックな変調を明らかとすることで、構造体形成の微視的機構を明らかとする重要な役割を担っている。我々は、これまでに溶液 NMR 法を駆使して、超分子構造体構成タンパク質 CEP128 が溶液中において経時的に構造を変化させることを明らかとしてきた。本申請では、その過程の先に形成される固体様の構造体中における CEP128 の構造情報を NMR 計測により取得することを目的とした。その結果 CEP2128 の部分配列のうちゲル状となった I1 と呼ばれる試料を、超遠心により固体 NMR 試料管内に直接濃縮し、固体 NMR 試料とする条件を確立した。このうえで、600 MHz 固体 NMR 装置にて ^1H - ^{13}C CP 測定を行うことにより $^{13}\text{C}\alpha/\beta$ 化学シフトを計測し、I1 の二次構造を推定することに成功した。さらに分子内で固定された領域に由来するシグナルを検出する CP 測定と、高い運動性を保持した領域に由来するシグナルを検出する HSQC 測定を併用することにより、ゲル中における I1 領域の固定度と、その分子内分布に関する情報を得ることができた。